Aus dem Städtischen Hygienischen Universitäts-Institut
zu Frankfurt a. M.
(Direktor: Geh. Medizinalrat Prof. Dr. M. Neisser)

Über Gasbildung aus Glyzerin durch Bakterien der Coli-Gruppe

Inaugural-Dissertation

zur
Erlangung der Doctorwürde
in der
Medizin und Chirurgie
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Schlesischen Friedrich-Wilhelms-Universität
zu Breslau

vorgelegt von

Hedwig Neisser
aus Breslau

BRESLAU 1925
D. Guttmann, Breslau 1, Herrenstr. 24

Gedruckt mit Genehmigung der hohen Medizinischen Fakultät
der Schlesischen Friedrich-Wilhelms-Universität zu Breslau

Berichterstatter:
Professor Dr. Pfeiffer.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Inhaltsübersicht.

I. Glyzerinvergärung in der Literatur.

II. Versuchstechnik.

A. Herstellung und Verwendung des Glyzerinagars: hohe Schicht.

B. Methode der Beimpfung.

III. Experimentelle Bestimmung der optimalen Bedingungen für die Vergärung.

IV. Gasbildung aus Glyzerin in hoher Agarschicht durch Bakterien der Coli-Gruppe.

A. Reinkulturen-Versuche.

B. Züchtung von starken Glyzerinvergärern aus Stuhlgemischen.

V. Zusammenfassung.

I. Glyzerinvergärung in der Literatur.

Bekanntlich hängt der Einfluß, den das Glyzerin auf das Wachstum von Bakterien ausübt, von seiner Konzentration ab, derart, daß es in geringem Prozentsatz — $^1/_2$—5% — Nährmedien zugefügt, deren Nährwert erhöht, dagegen in hoher Konzentration — etwa von 25% — entwicklungshemmend und keimtötend wirkt.

Von den vielen Arbeiten über Glyzerin als Konservierungs- und Desinfektionsmittel sei hier nur die Arbeit von G. Seiffert (1) genannt, in der von der verschiedenen Resistenz der einzelnen Bakterienarten gegenüber dem Glyzerin berichtet wird. Seiffert führt als sehr widerstandsfähig gegen Glyzerin Staphylokokken, Milzbrandbazillen und Bact. subtilis an. Besonders in ihrem Wachstum geschädigt werden Streptokokken und Bac. pyocyaneus. Carlo Gazzetti (2) hat die Wirkung des Glyzerins auf einige chromogene Keime untersucht. Seine Versuche mit Staphylokokkus aureus und Bac. prodigiosus ergaben, daß der Zusatz von Glyzerin zu den Nährsubstraten im allgemeinen ungünstigen Einfluß auf die Pigmentbildung ausübt.

Wie fördernd auf der andern Seite Glyzerin für das Wachstum der Tuberkelbazillen und der Rotzbazillen ist, die es als Kohlenstoffquelle sehr gut ausnützen können, ist ja bekannt. Über den Nährwert des Glyzerins für Hefe berichtet Bocorny (3). Systematische Versuche mit Glyzerin als Kohlenstoffquelle unternahmen H. Braun und C. E. Cahn-Bronner (4) im Rahmen ihrer Untersuchungen über den Verwendungsstoffwechsel pathogener Bakterien. Diese ergaben, daß in Nährböden, die als einzige Kohlenstoffquelle einen Glyzerinzusatz von 0,5% enthielten, Paratyphus- und Colistämme schnell und üppig, Typhusstämme langsamer, aber auch gut gediehen.

Daß Glyzerin auch einer Vergärung durch Bakterien unterliegt, hat bisher geringere Beachtung in der Literatur gefunden. In jüngster Zeit ist eine Arbeit erschienen, welche sich mit den chemischen Vorgängen beschäftigt, die diesem Vergärungsprozeß zugrunde liegen.

W. C. de Graaff und A. J. Le Fèvre (5) befassen sich mit der Frage, welche Zuckerarten und welche Zuckeralkohole von Bakterien zersetzt werden, und welche Endprodukte hierbei entstehen. Für die Vergärung des dreiwertigen Alkohols Glyzerin ergibt sich nach de Graaff und Le Fèvre in Kürze das Folgende:

Glyzerin wird von Coli-, Paratyphus-, Typhus- und Ruhr-Stämmen auf dem Wege über Acetaldehyd abgebaut. Für die Vergärung durch Bact. coli und den Paratyphus-Bacillus speziell ergeben sich folgende Endprodukte des Vergärungsprozesses:

Acetaldehyd, Spuren Aethylalkohol, Essigsäure, Kohlendioxyd, Wasserstoff, Bernsteinsäure und sehr wenig Milchsäure.

Glyzerin wird durch diese Bakterien schnell und kräftig wie die Zuckerarten vergoren unter Bildung der gleichen Endprodukte mit Ausnahme von Ameisensäure.

Was nun die Resultate der bakteriologischen Forschung über Gas- und Säurebildung aus Glyzerin anlangt, so finden sich in den einzelnen Lehrbüchern verschiedene Angaben.

Nach Kruse (6) kommt eine Säurebildung aus Glyzerin den Dysenterie- und Pseudodysenterie-Bazillen zu, durch deren Tätigkeit Ameisen-, Essig- und Propionsäure entsteht. Lafar (7) erwähnt, daß Bertrands Sorbose-Bakterium Glyzerin bis zum Dioxyaceton und die Tyrothrix tenuis Glyzerin bis zur Essigsäure vergäre. Nach Heim (8) vermögen die Typhusbazillen in geringem Maße aus Glyzerin Säure zu bilden. Sie unterscheiden sich hierin von Mandelbaums (9) als Metatyphus bezeichneten Stämmen, den Erregern einer durch Milchgenuß hervorgerufenen Typhusepidemie. Erwähnenswert ist die von Mandelbaum geübte Methode der Differenzierung der Typhusbazillen von den Metatyphusbazillen:

Die Metatyphusbazillen ließen auf glyzerinhaltigem Blutagar den Blutfarbstoff unverändert, während die regelrechten Typhusbazillen grüngelbe Färbung hervorriefen. Auf Glyzerinagar waren die Kolonien der Metatyphusbazillen von Kristalldrusen aus Tricalciumphosphat umgeben, das sich beim Alkalischwerden des Nährbodens durch Peptonabspaltung abschied. Die aus Glyzerin Säure bildenden Typhusbazillen erzeugten keine Kristalldrusen.

Die älteste Mitteilung über Gasentwicklung aus Glyzerin durch eine bestimmte Bakterienart findet sich im „Journal Chemical Society of London“ vom Jahre 1887.

Brown (10) beschreibt darin die Kohlendioxydbildung durch Bact. aceti aus Glyzerin.

In der „Revue de Hygiène 1896“ berichtete Ermengem (11) über Fleisch vergiftende Bakterien, die Gas bilden aus Milchzucker, Glukose, Saccharose, Glyzerin.

In neuerer Zeit hat Gerda Troili-Petersson (12) zwei Glyzerin vergärende Bakterienarten aus schwedischen Güterkäsen gezüchtet.

Eine zusammenfassende Übersicht über Glyzerin vergärende aerobe Bakterienstämme gewährt die Arbeit von Aldo Castellani und Albert J. Chalmers:

„Sur la classification de certaines groupes de Bazilles aerobies de l'intestin humain“ (13).

In dieser Aufstellung finden sich unter 98 aus menschlichem Darminhalt gezüchteten Bakterienstämmen 23, die aus Glyzerin Säure und Gas bilden. Sie sind sämtlich der Coli-Aerogenes-Gruppe anzugliedernde, gramnegative Stäbchen, teils beweglich, teils unbeweglich, teils Indolbildner, teils Nicht-Indolbildner. Hervorzuheben sind die als Bac. asiaticus und pseudo-asiaticus Castellani, sowie Bac. pseudo-Columbensis Castellani bezeichnenden Spezies, die nicht aus Milchzucker, wohl aber aus Glyzerin Gas bilden.

Schließlich sei noch auf Bergey's Manual of Determinative Bacteriology hingewiesen, das eine Reihe von Coli-Stämmen als Glyzerinvergärer bezeichnet. Es handelt sich dabei zumeist um die in den oben angeführten Arbeiten geschilderten Stämme.

Über die Methoden der Züchtung von Glyzerinvergärern, über die Beschaffenheit der hierfür verwendeten Nährböden fehlen in sämtlichen angeführten Arbeiten nähere Angaben. (Das von Gerda Troili-Petersson angegebene Verfahren hat nur für ihre aus Käse gezüchteten Glyzerin vergärenden Bakterien Gültigkeit.)

Die Beobachtung von Gasblasen in Glyzerin-Agarplatten bei zwei Fällen gab Gelegenheit, die Frage der bakteriellen Gasbildung aus Glyzerin einer erneuten Untersuchung zu unterziehen Diese erstreckte sich im wesentlichen auf die Untersuchung von Bakterien der Coli-Gruppe. In Rücksicht auf das Fehlen näherer methodischer Angaben in der Literatur sei hier zunächst über die von mir angewandten Methoden berichtet.

II. Versuchstechnik.

A. Herstellung und Verwendung des Glyzerinagars: hohe Schicht.

Vorausgeschickt seien einige Mitteilungen über die verwendeten Nährmedien.

Ich bediente mich anfangs bei meinen Versuchen fester und flüssiger Nährböden nebeneinander, indem ich die auf Glyzerinvergärung zu untersuchenden Reinkulturen und Stuhlgemische in mit Glyzerinbouillon gefüllte Gärkölbchen und in zu hoher Schicht abgefüllten Nähragar mit Glyzerinzusatz verimpfte. Im Laufe der Untersuchungen stellte sich heraus, daß die Gasbildung in der hohen Agarschicht schneller zur Beobachtung gelangte, als in den Gärkölbchen, die ein Mischen der beimpften Bouillon nur unvollkommen gestatteten. Ich verzichtete daher auf die Benutzung der Gärkölbchen und verwandte nur die hohe Agar-Schicht als feinsten Indikator für den Eintritt der Gasentwicklung.

Das in der erstarrten Agarsäule entstehende Kohlendioxyd führt bei ausgiebiger und rascher Bildung zur Zerreißung der hohen Schicht. Der Grad der Zerreißung gibt ein anschauliches Bild von der Intensität des Vergärungsprozesses.

(Es sei bemerkt, daß, wenn hier die Gasentwicklung immer auf Kohlendioxyd bezogen wird, damit nicht etwa gesagt sein soll, daß nur dieses Gas entstände; es bildet sich ja außerdem immer Wasserstoff. Da es sich aber bei meinen Untersuchungen nicht um die chemische Analyse, sondern um ein bakterielles Differenzierungsverfahren handelte, so wurde eine Untersuchung des gebildeten Gases nicht vorgenommen.)

Was nun die Zusammensetzung des Glyzerinagars anbetrifft, so ist in erster Linie zu beachten, daß der Nachweis der Kohlendioxydbildung aus Glyzerin nur in einem Nährmedium geschehen kann, dessen Glukosegehalt soweit vermindert ist, daß eine durch Glukosevergärung entstehende Gasbildung nicht mehr eintreten kann.

Für die Herstellung und Verwendung des entzuckerten Agars kamen mir die Erfahrungen von E. Klieneberger zustatten, die am hiesigen Institut seit Jahresfrist mit Untersuchungen über die bakterielle Zuckervergärung in hoher Agarschicht beschäftigt ist.

Der gewöhnliche Nähragar enthält immer geringe Mengen von Traubenzucker (von Spuren an bis zu 0,3 % nach Th. Smith) (15).

Der in unserm Institut in Gebrauch befindliche Nähragar enthält durchschnittlich etwa $^1/_{50}$ % Traubenzucker, der zum kleineren Teil aus dem die Grundlage bildenden Plazentawasser, zum größeren Teil aus dem selbst bereiteten Pepton stammt.

Um ihn zuckerfrei zu machen, bedienen wir uns am hiesigen Institut der von Smith (15) angegebenen Methode, die den Zucker aus der Nährbouillon durch bakterielle Vergärung — Beimpfung mit Coli — entfernt.

Dementsprechend gestaltete sich die Herstellung des von mir benutzten Agars folgendermaßen:

1. Herstellung der Bouillon.

Zur Herstellung der Bouillon werden gemischt:

20 l Peptonlösung Frieber (die nach den Angaben Friebers (16) unter Verwendung von Plazentawasser bereitet wird),
100 gr Kochsalz,
50 „ Fleischextrakt.

Nachdem die Reaktion der Bouillon Lackmus-neutral eingestellt ist, werden 140 ccm Normal-Sodalösung hinzugefügt, das Gemisch wird 2 Stunden gekocht und heiß durch Papier filtriert.

Die Alkalität der Bouillon soll zwischen pH=7,2 und pH=7,4 liegen, worauf an anderer Stelle noch näher eingegangen werden wird.

2. Entzuckerung der Bouillon.

Die Bouillon wird in Kolben abgefüllt und mit einem Coli-Stamm beimpft, 48 Stunden lang im Brutschrank bei 37° bebrütet. Innerhalb dieser Zeit wird sie zweimal kräftig durchgeschüttelt. Nach zweistündiger Sterilisation im Dampftopf erfolgt

3. die Weiterverarbeitung zum Agar,

dessen Reaktion auf pH = 7,2 — 7,4 erneut eingestellt werden muß (s. o.).

Jede Versuchsreihe mit Glyzerinagar:hohe Schicht enthielt zur Kontrolle ein Röhrchen mit entzuckertem Agar in hoher Schicht

ohne Glyzerinzusatz, das nach Beimpfung mit Coli und 24stündiger Bebrütung bei 37° keinerlei Gasbildung aufweisen durfte. Nach einiger Zeit ungefähr vier Wochen nach der Herstellung des entzuckerten Agars beobachtete ich nach Beimpfung mit Coli in diesem doch entzuckerten Agar Gasentwicklung, die von Zuckervergärung herrühren mußte. Offenbar hatte sich durch chemische Zersetzungsvorgänge ein durch Bact. coli vergärbarer Zucker gebildet. Der entzuckerte Agar war für meine Versuchszwecke unbrauchbar geworden und mußte durch frisch hergestellten ersetzt werden.

Noch schneller schienen diese chemischen Spaltungen im entzuckerten Agar einzutreten, der längere Zeit mit Glyzerin versetzt aufbewahrt worden war. Aus diesem Grunde fügte ich das Glyzerin nicht im Anschluß an die Nährbödenherstellung zum entzuckerten Agar hinzu, sondern erst unmittelbar vor der Beimpfung.

Ich verwandte zu meinen Versuchen eine 1%ige Glyzerinagar-Mischung, indem ich zum Agar, in Schichten von 10 ccm abgefüllt, 3 Tropfen chemisch-reines Glyzerin hinzusetzte.

B. Methodik der Beimpfung.

Die auf Glyzerinvergärung zu prüfende Reinkultur wurde vom 24stündig bebrüteten Schrägagarröhrchen mit 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmt. Eine mittlere Öse dieser Aufschwemmung wurde in die bei 45° flüssig gehaltene hohe Glyzerinagarschicht verimpft. Das beimpfte Röhrchen wurde geschüttelt nach der von Klieneberger bei Zuckeruntersuchungen geübten Methode, die Klieneberger (17) folgendermaßen begründet und beschreibt:

„Das Schütteln hat hierbei nicht nur den Zweck, die eingeimpften Bakterien gleichmäßig im Agar zu verteilen, sondern vor allem muß dadurch der Agar durchlüftet werden. Das Schütteln soll so ausgeführt werden, daß Luftbläschen den flüssigen Agar durchdringen und wieder aufsteigen."

Von mir in dieser Richtung vorgenommene Versuche mit Glyzerinvergärern ergaben gleichfalls, daß die Sauerstoffspannung in den geschüttelten Röhrchen für den Vergärungsprozeß günstigere Bedingungen lieferte, als in nicht geschüttelten. Wie der Versuch Tabelle I lehrt, trat in geschüttelten Röhrchen bereits nach 15stündiger Bebrütung vollkommene Zerreißung der hohen Schicht ein. Die nicht geschüttelten Röhrchen wiesen zu diesem Zeit-

punkte nur Blasenbildung auf und zeigten erst nach 48 stündiger Bebrütung ausgesprochene Zerreißung der hohen Schichten.

Nachdem die beimpften und geschüttelten Agarschichten bei Zimmertemperatur erstarrt waren, wurden sie im Brutschrank von 37° 24—72 Stunden bebrütet.

Tabelle I.

Glyzerinvergärung in geschüttelten und nicht geschüttelten hohen Agar-Schichten.

Bezeichnung der verimpften Stämme	geschüttelt	nicht geschüttelt			
	15 stündige Bebrütung	15	24	48	stündige Bebrütung
N_1	st. Z.	+++	Z.	st. Z.	
N_2	st. Z.	+++	+++	Z.	
Mi_1	st. Z.	+++	+++	Z.	
Mi_2	st. Z.	+++	+++	st. Z.	
E_{75}	st. Z.	+++	+++	st. Z.	

Erklärung der Abkürzungen:

st. Z. = starke Zerreißung,
Z. = Zerreißung,
+++ = reichliche Blasenbildung.

Die 5 Stämme gehören sämtlich zur Coli-Gruppe. Stamm N_1 und N_2 wurde von mir aus Stuhl, Mi_1 und Mi_2 aus Milch gezüchtet. Stamm E_{75}, zur Institutssammlung gehörig, wurde aus einem Scheidensekret gezüchtet.

III. Experimentelle Bestimmung der optimalen Bedingungen für die Vergärung.

Die in diesem Abschnitt geschilderten Versuche wurden zu dem Zwecke unternommen, optimale Bedingungen für die Vergärung zu ermitteln. Es wurde untersucht, inwieweit der Vergärungsgrad durch die verimpfte Keimmenge auf der einen, durch Wasserstoffionenkonzentration des entzuckerten Agars und Glyzeringehalt der hohen Schicht auf der andern Seite beeinflußt wurde.

Im übrigen wurde die Nährbodenzusammensetzung so gewählt, wie sie sich nach den Untersuchungen von Klieneberger als optimal für die Zuckervergärung erwiesen hatte. (Vgl. Abschnitt II, A.).

A. Abhängigkeit des Vergärungsgrades von der verimpften Keimmenge.

Für die Schrägagarkultur wurde auf Grund hiesiger Erfahrungen ein Gehalt von 40 Milliarden Keimen angenommen.

Eine Schrägagarkultur des Glyzerin vergärenden Stammes N_1 (s. Tabelle VII) wurde mit 4 ccm physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmt. Von 1 ccm dieser Aufschwemmung wurden mit physiologischer Kochsalzlösung folgende Verdünnungen hergestellt:

1/10 1/100 1/1000 1/10 000 1/100 000 1/1 000 000 1/10 000 000 1/100 000 000 1/1 000 000 000.

Von jeder dieser Verdünnungen wurden 2 Tropfen = 0,1 ccm in 1%igem Glyzerinagar:hohe Schicht verimpft. Die Röhrchen wurden geschüttelt und 24 Stunden bei 37° bebrütet. Tabelle II faßt die Versuchsergebnisse zusammen.

Tabelle II.

Glyzerinvergärung in hoher Agarschicht durch fallende Kulturmengen.

Verdünnungen von 1 ccm der Aufschwemmung:	Geschätzte Zahl der in 1 ccm der Verdünnungen befindlichen Keime:	Geschätzte Zahl der verimpften Keime:	Ergebnis nach 24 stündiger Bebrütung bei 37°:
1/10	1 000 000 000	100 000 000	st. Z.
1/100	100 000 000	10 000 000	st. Z.
1/1000	10 000 000	1 000 000	st. Z.
1/10 000	1 000 000	100 000	st. Z.
1/100 000	100 000	10 000	Z.
1/1 000 000	10 000	1000	Z.
1/10 000 000	1000	100	+ + +
1/100 000 000	100	10	0
1/1 000 000 000	10	1	0

Erklärung der Abkürzungen:

st. Z. = starke Zerreißung,
Z. = Zerreißung,
+ + + = reichliche Blasenbildung,
0 = keinerlei Blasenbildung.

Durch Verimpfung von schätzungsweise 100 000 Keimen, war, wie die Tabelle zeigt, noch maximale Vergärung zu erzielen.

Nach diesem Versuche konnte an dem in Abschnitt II B beschriebenen Einheitsmodus für die Verimpfung festgehalten werden. Mit einer mittleren Oese = 0,002 ccm einer Aufschwemmung mit 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung werden schätzungsweise 80 000 000 Keime verimpft, eine Kulturmenge, die nach Tabelle II mit Sicherheit das Maximum der Vergärung unter sonst optimalen Bedingungen herbeiführt.

B. Abhängigkeit des Vergärungsgrades von der Wasserstoffionenkonzentration des Agars.

Durch Zusatz von Normal-Natronlauge, bzw. Normal-Salzsäure veränderte ich den pH-Gehalt des entzuckerten Agars wie folgt:

Für 10 ccm entz. Agar	ist pH annähernd
+ 4 Tr. NaOH	= 8,4
3 „ „	= 8,2
2 „ „	= 8,0
1 „ „	= 7,7
0 „ „	= 7,4
1 „ HCl	= 6,9
2 „ „	= 6,5
3 „ „	= 5,9
4 „ „	= 5,0

Die pH-Werte wurden nach der von L. Michaelis angegebenen Indikatoren-Methode bestimmt. Der Zusatz von 1% Glyzerin verändert den pH-Wert, wie ich mehrfach feststellte, nur ganz unwesentlich.

Die Beimpfung wurde mit Stamm N_1 in der üblichen Weise vorgenommen.

Wie aus Tabelle III ersichtlich, liegt das Optimum für die Vergärung zwischen pH = 7,7 und pH = 6,9, d. h. in der Gegend des Neutralpunktes. Bei einem pH-Gehalt von 5,9 ist noch geringe Blasenbildung ohne jede Zerreißung zu beobachten. Bei einem pH-Gehalt von 5,0 erfolgt in der hohen Schicht kein Wachstum mehr. Günstiger als in diesen stark sauren gestalten sich die Wachstumsbedingungen und der Vergärungsgrad in stark alkalischen Nährböden. Noch bei pH = 8,4 tritt Zerreißung der hohen Schicht ein.

pH-Werte, die über 8,4 hinausgehen, ließen sich mit der Michaelisschen Indikatorenmethode nicht bestimmen. Ergänzend möchte ich hier anführen, daß nach den Untersuchungen Ernst Speyers (18), die mit der Gaskette vorgenommen wurden, Coli-Bazillen in flüssigen Nährböden unter aeroben Bedingungen wachsen bei der pH 4,5—9,6.

Tabelle III.

Glyzerinvergärung in hoher Agarschicht bei fallenden und steigenden pH-Werten.

pH-Werte:	Vergärungsgrad nach 24stündiger Bebrütung bei 37°:
8,4	Z.
8,2	Z.
8,0	Z.
7,7	st. Z.
7,4	st. Z.
6,9	st. Z.
6,5	Z.
5,9	+ +
5,0	—

Erklärung der Abkürzungen:
st. Z. = starke Zerreißung,
Z. = Zerreißung,
+ + = geringe Blasenbildung,
— = keinerlei Wachstum.

C. Abhängigkeit des Vergärungsgrades vom Glyzeringehalt der hohen Schicht.

Wenn ich die auf Glyzerinvergärung zu untersuchenden Stämme in eine Agarschicht verimpfte, die mit **1**% Glyzerin versetzt war, so gestaltete ich die Bedingungen für den Vergärungsprozeß auch in dieser Beziehung zu optimalen.

Die an 10 Stämmen durchgeführten Untersuchungen ergaben übereinstimmend, daß noch bei einem Glyzeringehalt von 1/10% Zerreißung der hohen Schicht, bei einem Gehalt von **1/100**% deutliche Blasenbildung im Agar nach 24stündiger Bebrütung bei 37° auftrat.

Bei einem Glyzeringehalt von 1/1000% sah ich keinerlei Gasentwicklung mehr.

Auf der andern Seite zeigten Versuche mit steigenden Glyzerinprozenten noch bei einem Gehalt von 10% ausgesprochene Zerreißung der hohen Schicht. In Agarschichten, deren Glyzeringehalt über 10% hinaus gesteigert war, trat die wachstumshemmende Wirkung des Glyzerins zu Tage. Bei **20%** fehlte jede Blasenbildung; es bestand nur schwaches Wachstum an der Oberfläche. Bei 25% blieb in der hohen Schicht jedes Wachstum aus. Diese Resultate sind in Tabelle IV zusammengefaßt.

Tabelle IV.

Glyzerinvergärung in hoher Agarschicht bei steigenden und sinkenden Glyzerinprozenten.

Glyzeringehalt der hohen Agarschicht:	Vergärungsgrad nach 24 stündiger Bebrütung bei 37%:
25%	—
20%	O (schwaches Wachstum an der Oberfläche)
10%	st. Z.
1%	st. Z.
1/10%	Z.
1/100%	+ +
1/1000%	O

Erklärung der Abkürzungen:

st. Z. = starke Zerreißung,
Z. = Zerreißung,
+ + = geringe Blasenbildung,
O = keinerlei Blasenbildung,
— = keinerlei Wachstum.

IV. Gasbildung aus Glyzerin in hoher Agarschicht durch Bakterien der Coli-Gruppe.

A. Reinkulturen-Versuche.

Unter Berücksichtigung der in Abschnitt III dargelegten optimalen Bedingungen wurden die zur Coli-Gruppe gehörigen Stämme der Institutssammlung auf Gasbildung aus Glyzerin geprüft. Unter ihnen fand sich eine Reihe von Stämmen, die bereits nach 15stündiger Bebrütung bei 37° die hohe Glyzerinagar-Schicht völlig zerrissen hatten, also mit Sicherheit als Glyzerinvergärer zu bezeichnen waren. Charakteristischerweise waren die Wattepfropfen aus dem Kulturröhrchen durch die sehr starke Gasentwicklung herausgetrieben worden.

Kulturen, die nach 15stündiger Bebrütung nur geringe oder gar keine Blasenbildung aufwiesen, wurden länger bebrütet. Hierbei zeigte sich, daß im Verlauf der bis auf 72 Stunden ausgedehnten Bebrütungszeit die Gasentwicklung in den meisten Kulturröhrchen stetig zunahm. Wie aus Tabelle V zu ersehen ist, boten nach 72stündiger Bebrütung einzelne hohe Schichten, die nach 15 Stunden gar keine, nach 24 Stunden nur geringe Blasenbildung aufgewiesen hatten, das Bild einer Zerreißung.

Es war zu entscheiden, ob es sich auch hier um eine Glyzerinvergärung, wenn auch geringeren Grades und in verzögertem Tempo handelte, oder um einen noch näher zu untersuchenden andersartigen chemischen Vorgang.

Für die Annahme einer Glyzerinvergärung sprachen folgende Beobachtungen:

1. Die mit Stamm NO_{14} und NO_4 beimpften entzuckerten Agarschichten ohne Glyzerinzusatz zeigten auch nach 72stündiger Bebrütung keinerlei Gasblasen.

2. Gerade die Tatsache, daß die Gasentwicklung im Verlauf einer mehrtägigen Bebrütung im ständigen Zunehmen war, machte die Annahme wahrscheinlich, daß es sich hier um einen durch „schwache“ Vergärer verursachten Vergärungsprozeß handelte.

Dennoch durfte nicht vergessen werden, daß wir im Glyzerinagar einen komplizierten und vielleicht inconstanten*) Nährboden vor uns haben, der im Verlaufe eines protrahierten Bebrütungsprozesses durch die Lebenstätigkeit der Bakterien chemischen Spaltungen der verschiedensten Art unterworfen sein kann.

Die Frage, ob jene nach 24 Stunden sich entwickelnde geringe Blasenbildung auf Glyzerinvergärung beruhte, konnte daher nicht entschieden werden. Als „echte" Glyzerinvergärer wurden nur die Stämme bewertet, die nach 15—24stündiger Bebrütung bei 37° in der hohen Schicht stärkste Zerreißung bewirkt hatten.

Wiederholungen dieses Versuches mit den gleichen Stämmen, die sich durchschnittlich 2—3 Jahre in unserer Institutssammlung befanden, wurden im Laufe von 4 Monaten sechsmal ausgeführt und hatten die gleichen Ergebnisse. Die für die einzelnen Stämme charakteristischen Unterschiede im Glyzerinagar: hohe Schicht (Zerreißung, geringe oder gar keine Blasenbildung nach 15, 24, 48, 72 Stunden Brutschranktemperatur) erwiesen sich im Rahmen dieser Untersuchungen als konstante Eigenschaften.

Auf der andern Seite wurde untersucht, ob die sogenannten „Nicht"-Vergärer durch Passagenzüchtung in Glyzerin-haltigen Medien zu „echten" Vergärern gemacht werden könnten. Zu diesem Zwecke wurde folgender Versuch ausgeführt: Stamm NO_{14} und NO_4 wurden in Glyzerinagar: hohe Schicht verimpft und von dort täglich auf frische Glyzerinagar-Schichten übertragen, in der Weise, daß die frische Schicht von der jeweils zuletzt beimpften und 24 Stunden bei 37° bebrüteten hohen Schicht aus beimpft wurde. Innerhalb der sich über 20 Tage erstreckenden Versuchskette konnte in keiner der hohen Schichten nach 24stündiger Bebrütung die für die „echten" Glyzerinvergärer charakteristische Zerreißung beobachtet werden.

Das Gärvermögen der beiden Stämme war also durch die Passagenzüchtung in glyzerinhaltigen Medien nicht verstärkt worden, sondern konstant geblieben.

Auf Grund der vorstehenden Versuche läßt sich feststellen, daß die Untersuchung von Reinkulturen auf Glyzerin-Agar-Zerreißung in der angegebenen Weise als eine Methode der kulturellen Differenzierung nahestehender Arten anzusehen ist, da sie die Feststellung einer augenscheinlich konstanten kulturellen Eigenschaft ermöglicht.

*) Vgl. Abschnitt II, A.

Tabelle V.

Gasbildung aus Glyzerin in hoher Agarschicht durch Bakterien der Coligruppe.

Bezeichnung der Stämme	Verhalten nach 24 stündiger Bebrütung in		Verhalten in Glyzerinagar: hohe Schicht nach			
	Traubenzucker: h. Sch.	Milchzucker: h. Sch.	15	24	48	72 Stunden
NO_1 (Coli)	Z.	Z.	st. Z.			
NO_2 „	Z.	Z.	++	+++	+++	Z.
NO_4 „	Z.	Z.	0	++	+++	Z.
NO_5 „	Z.	Z.	st. Z.			
NO_7 (Paracoli)	Z.	0	0	0	0	0
NO_8 „	Z.	0	0	0	0	0
NO_{10} (Coli)	Z.	Z.	st. Z.			
NO_{11} „	Z.	Z.	st. Z.			
NO_{14} „	Z.	Z.	0	+	+	++
NO_{15} „	Z.	Z.	+	++	+++	Z.
NO_{18} „	Z.	Z.	st. Z.			
NO_{19} (Paracoli)	Z.	0	+++	Z.	st. Z.	
NO_{20} „	Z.	0	st. Z.			
NO_{22} (Coli)	Z.	Z.	st. Z.			
NO_{24} „	Z.	Z.	0	++	+++	+++
NO_{26} „	Z.	Z.	st. Z.			
NO_{28} (zur Coligruppe gehörig)	0	0	0	0	0	0

Entzuckerter Ag. **ohne** Glyzerinzusatz

	nach 15	24	48	72 Stunden
beimpft m. NO_{14}:	0	0	0	0
„ „ NO_4:	0	0	0	0

Erklärung der Abkürzungen:

st. Z. = starke Zerreißung,
Z. = Zerreißung,
+ = 1 Blase,
++ = mehrere Blasen,
+++ = reichliche Blasenbildung,
0 = keinerlei Gasentwicklung.

In diesem Zusammenhange seien einige Untersuchungen mitgeteilt, welche die Gasbildung aus Glyzerin durch nicht der Coli-Gruppe angehörige Bakterienstämme betrafen. Sie wurden mit Ruhr-, Typhus-, Paratyphus-A- und B-Bazillen, mit dem Bact. proteus und alkaligenes, sowie Bazillen der Friedländer-Gruppe ausgeführt. Wie Tabelle VI zeigt, erzeugten alle untersuchten Stämme in der hohen Schicht **keine** Zerreißung; sie verursachten gar keine oder jene geringe Gasblasenbildung, deren Entstehung bei der gewählten Methode noch nicht geklärt ist.

Tabelle VI.

Gasbildung aus Glyzerin durch nicht zur Coligruppe gehörige Bakterienstämme.

Bezeichnung der Stämme	Verhalten nach 24 stündiger Bebrütung in		Verhalten in Glyzerinagar: hohe Schicht nach			
	Traubenzucker: h. Sch.	Milchzucker: h.Sch.	15	24	48	72 Stunden
K_{20} (Paratyphus A)	Z.	O	O	O	O	O
K_{22} „ „	Z.	O	O	O	O	O
L_2 (Mäusetyphus)	Z.	O	O	O	O	O
L_8 (Paratyphus B)	Z.	O	O	O	O	O
L_9 „ „	Z.	O	O	O	O	O
L_{13} „ „	Z.	O	O	O	O	O
L_{14} „ „	Z.	O	O	O	+	+
L_{22} „ „	Z.	O	O	O	O	O
K_{16} (Typhus)	O	O	O	O	O	O
K_{18} „	O	O	O	O	O	O
R_1 (Proteus X_{19})	Z.	O	O	+	++	++
R_3 (Proteus)	Z.	O	O	+	+	++
R_7 (Alkaligenes)	O	O	O	O	O	O
P_{11} (Friedländer)	Z.	O	+	++	+++	Z.
P_{13} „	Z.	O	O	O	O	O
M_5 (Colitis Y)	O	O	O	O	O	O
M_{10} (Colitis Flexner)	O	O	O	O	O	O
M_{34} (Shiga-Kruse)	O	O	O	O	O	O

Entzuckerter Ag. **ohne** Glyzerinzusatz

	nach 15	24	48	72 Stunden
beimpft mit NO_{14}:	O	O	O	O
„ „ NO_4:	O	O	O	O

Erklärung der Abkürzungen:

st. Z. = starke Zerreißung,
Z. = Zerreißung,
+ = 1 Blase,
++ = mehrere Blasen,
+++ = reichliche Blasenbildung,
O = keinerlei Gasentwicklung.

B. Züchtung von starken Glyzerinvergärern aus Stuhlgemischen.

Die von mir auf ihren Gehalt an „echten“ Glyzerinvergärern zu untersuchenden Stuhlgemische und Milchproben wurden entsprechend der für Reinkulturen angewandten Methode zunächst in Glyzerinagar:hohe Schicht verimpft:

Eine mittlere Öse des unverdünnten Stuhlgemisches wurde in den bei 45° flüssig gehaltenen Glyzerinagar verrieben, das beimpfte Röhrchen geschüttelt, und 24 Stunden lang im Brutschrank bebrütet.

Für die Bewertung des Ergebnisses lassen sich hier keine allgemein gültigen Regeln aufstellen. Das Fehlen jeder Gasbildung beweist keineswegs, daß in dem verimpften Material keine Glyzerinvergärer vorhanden sind. Diese können vielmehr im Wachstum und Glyzerinspaltung durch das Überwiegen anderer Bakterienarten gehemmt sein. Es ist mir jedenfalls mehrmals gelungen, auch aus solchen unvergorenen Glyzerinagar-Schichten Glyzerin stark vergärende Reinkulturen zu züchten.

Um eindeutige Resultate über das Vorhandensein von „echten“ Glyzerinvergärern in Stuhlgemischen zu gewinnen, war es daher erforderlich, die im Gemisch enthaltenen Bakterienarten auf dem Wege eines Plattenverfahrens zu isolieren, mit dem Ziel, Stämme zu finden, die weiterhin als Reinkultur verimpft, nach 24stündiger Bebrütung bei 37° die hohe Glyzerinagar-Schicht zur Zerreißung brachten.

Welche Nährböden waren nun zu solcher Differenzierung geeignet? Auf den Endo'schen Milchzuckernährböden ließen sich die „echten“ Glyzerinvergärer von den übrigen Coli-Stämmen nicht unterscheiden.

Ich machte daher den Versuch, die stark glyzerinvergärenden Stämme von den übrigen auf Endoplatten zu differenzieren, die anstelle des üblichen Milchzuckers $^1/_2$ % Glyzerin enthielten. Hierbei zeigte sich, daß die Kolonien der „echten“ Vergärer bereits nach **15stündiger** Bebrütung bei 37° ausgesprochenen Metallglanz aufwiesen, während die Kolonien der sogenannten „Nicht“-Vergärer zu diesem Zeitpunkt nur schwach rot gefärbt erschienen.

Nach **24stündiger** Bebrütung zeigten die Platten ein anderes Bild. Die Kolonien der „Nicht“-Vergärer waren jetzt stärker gerötet. Vereinzelte gut isolierte Kolonien wiesen ausgesprochenen

Metallglanz auf und waren deshalb von den Kolonien der starken Vergärer zu diesem Zeitpunkte nicht mehr zu unterscheiden.

Erwähnt sei hier, daß während alle untersuchten Indolbildenden Glyzerinvergärer nach 15 Stunden in fuchsinglänzenden Kolonien erschienen, unter den phenolbildenden Glyzerinvergärern zwei Stämme gefunden wurden, die nach 15—24stündiger Bebrütung keinen ausgesprochenen Metallglanz aufwiesen.

Die Übertragung der Differenzierungsmethode auf die Bakterienflora in Stuhlgemischen und Milchproben geschah in doppelter Weise:

1. Es wurde ein aus drei Glyzerin-Endoplatten bestehender Satz mit einer Öse des Stuhlgemisches beimpft und 15 Stunden bei 37 ° bebrütet.

2. Eine Öse des gleichen Stuhlgemisches wurde in der üblichen Weise in Glyzerinagar: hohe Schicht verimpft. Von diesem 24 Stunden bebrüteten Glyzerinagar aus wurde ein aus drei Glyzerin-Endoplatten bestehender Satz auf folgende Weise beimpft:

Ein etwa erbsengroßes Stück des durchwachsenen Glyzerinagars wurde in eine Bouillonkuppe gebracht. Durch kräftiges Schütteln lösten sich die am Agarstück befindlichen Bakterienkolonien ab. Eine mittlere Öse dieser Bouillonaufschwemmung wurde auf der ersten Glyzerin-Endoplatte des Satzes verrieben.

Der Plattensatz wurde 15 Stunden bei 37 ° bebrütet.

Nach 15 Stunden Bebrütung wurden sämtliche Platten auf ihren Gehalt an metallglänzenden Kolonien hin geprüft.

Hierbei ergab sich zumeist, daß die nach Verfahren **2** angelegten Platten wesentlich reicher an metallglänzenden Kolonien waren, als die zum selben Stuhl gehörigen nach Verfahren **1** angelegten Platten. In einigen Fällen fehlten die fuchsinglänzenden Kolonien auf den nach Verfahren **1** beimpften Platten vollkommen, während sie auf den nach Verfahren **2** beimpften Platten in größerer Anzahl — bis zu 10 und 15 % aller Kolonien — vorhanden waren.

Auf Grund dieser Beobachtung benutzte ich die hohe Glyzerinagar-Schicht als Anreicherungsmedium für die stark glyzerinvergärenden Coli-Stämme und wählte dementsprechend folgenden Weg zu ihrer Züchtung aus Gemischen:

1. Das Stuhlgemisch wird nach der im Anfange dieses Abschnitts geschilderten Weise in Glyzerinagar: hohe Schicht verimpft.

2. Von dieser 24stündig bei 37 ° bebrüteten Glyzerinagar-Schicht aus wird ein aus $3^1/_2$ %igen Glyzerin-Endo-Platten bestehender Satz beimpft.

3. Nach 15stündiger Bebrütung bei 37 ° werden diese Platten auf ihren Gehalt an metallglänzenden Kolonien geprüft.

4. Eine metallglänzende Kolonie wird in ein Schrägagarröhrchen abgestochen und das Röhrchen 24 Stunden bei 37 ° bebrütet.

5. Die Schrägagarkultur wird mit 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmt.

Eine mittlere Öse der Aufschwemmung wird in 1 %igen Glyzerinagar: hohe Schicht verimpft, das beimpfte Röhrchen geschüttelt und 15—24 Stunden bei 37 ° bebrütet.

6. Der Eintritt einer Zerreißung der Agarschicht beweist, daß ein Glyzerin stark vergärender Stamm gezüchtet wurde.

In Tabelle VII sind 5 verschiedene Typen der „echten" Glyzerinvergärer zusammengestellt. Die Stämme N_1, Mi_1, Mi_2, NO_{22}, vergären sämtlich Trauben- und Milchzucker, unterscheiden sich jedoch untereinander durch Beweglichkeit und Nichtbeweglichkeit und die Fähigkeit, Indol oder Phenol zu bilden. Stamm NO_{20} ist ein Paracoli-Stamm, der Milchzucker nicht vergärt.

Die „echten" Glyzerinvergärer sind in menschlichen Stühlen außerordentlich reichlich vertreten. Unter 70 von mir untersuchten Stühlen waren sie in jedem zweiten bis dritten Stuhle nachzuweisen. Aus Milch gelang mir ihre Züchtung zweimal. Auch die in zwei Aborten gefundenen Coli-Stämme gehörten zu den starken Glyzerinvergärern.

Eine Beziehung zu krankhaften Zuständen konnte bisher nicht festgestellt werden.

V. Zusammenfassung.

Die Beobachtung von Gasblasen in Glyzerinagarplatten bei zwei Fällen gab Gelegenheit, der Gasbildung durch Coli aus Glyzerin experimentell näher zu treten.

Es wurde dabei die im Hygienischen Institut ausgearbeitete Methode des Kohlehydrat-Agars in hoher Schicht übernommen, wie sie im Text genauer beschrieben ist.

elle VII.

olke nach 8 | 72 nden		Trauben-zucker hohe Schicht	Milch-zucker hohe Schicht	Glyzerin-agar hohe Schicht	Mannit- 24 | 48 | 72 Stunden			Malrose- Lachmusschrägagar nach: 24 | 48 | 72 Stunden			Saccharose- 24 | 48 | 72 Stunden			Tyrosin-wasser*)
ot	rot	Z.	Z.	st. Z.	rot	rot	rot	rot	rot	rot	schwach blau	blau	blau	Phenol —
ot	rot	Z.	Z.	st. Z.	rot	rot	rot	rot	rot	rot	blau	blau	blau	Pheno —
ot	rot	Z.	Z.	st. Z.	rot	rot	blau	rot	rot	blau	rot	rot	blau	Phenol —
ot	rot	Z.	Z.	st. Z.	rot	rot	rot	rot	rot	rot	blau	blau	blau	Phenol +
ot	rot	Z.	Z.	st. Z.	rot	rot	rot	rot	rot	rot	rot	rot	rot	Phenol +

rreißung. Z. = Zerreißung. O = keinerlei Gasentwickelung.

lprobe", wie sie von M. Neisser und W. Frieber (20) angegeben worden ist.

Tab

Bezeichnung des Stammes	Herkunft	Gram-Präparat v. Schrägagar	Häng. Tropfen vom Löfflerserum bei		Schrägagar	Löfflerserum	Bouillon	Trypsin-Bouillon	Lachmusr	
			Brutschrank-temperatur	Zimmer-temperatur					24	4 Stu
N_1 (Coli)	menschlicher Stuhl	mittellanges gramnegativ. Stäbchen	beweglich	beweglich	üppiger, dichter, weißer Belag	keine Farbstoffbildung, keine Verflüssigung	dissus getrübt Bodensatz	Indol +	rot	r
Mi_1 (Coli)	Milch	"	"	"	"	"	"	Indol —	rot	r
Mi_2 (Coli)	"	"	nicht beweglich	nicht beweglich	"	"	"	Indol —	rot	r
NO_{22} (Coli)	menschlicher Stuhl	"	beweglich	beweglich	"	"	"	Indol —	rot	r
NO_{20} (Paracoli)	"	"	"	"	"	"	"	Indol —	rot	r

Erklärung der Abkürzungen: st. Z. = starke Ze

*) Zur Prüfung der Phenolbildung bediente ich mich der „Indophen

Unter Berücksichtigung der bisher ermittelten optimalen Bedingungen hat sich gezeigt, daß unter den Bakterien der Coli-Gruppe Stämme vorhanden sind, welche in 24 Stunden eine starke Zerreißung der Glyzerinagarschichten bewirken, während es andere im übrigen analoge Stämme gibt, die in derselben Zeit entweder gar keine oder aber nur ganz wenige Gasblasen bilden. Inwieweit es sich in den letzteren Fällen überhaupt um eine Abspaltung von Kohlensäure aus Glyzerin handelt, muß noch unentschieden bleiben. Jedenfalls aber waren die erwähnten Unterschiede im Glyzerinagar für die einzelnen Stämme charakteristisch und konnten im Laufe einiger Monate nicht verändert werden.

Von nicht zur Coli-Gruppe gehörigen Arten wurden auf Gasbildung aus Glyzerin geprüft: Typhus-, Paratyphus-A- und B- und Ruhr-Bazillen, Proteus- und Alkaligenes-Bakterien, sowie zur Friedländergruppe gehörige Bakterien. Sie zeigten soweit untersucht, entweder gar keine oder aber jene vereinzelten Gasblasen, deren Entstehung bei der gewählten Methode noch nicht geklärt ist.

Zur Darstellung der Glyzerin stark vergärenden Coliarten aus menschlichen Stühlen und Milch verwendete ich zunächst eine Anreicherung in Glyzerinagar, indem ich die zu untersuchenden Stuhlgemische und Milchproben unmittelbar auf solche hohe Schichten übertrug. Von diesen 24 Stunden bebrüteten hohen Schichten aus wurden Endoagarplatten beimpft, welche anstelle von Milchzucker Glyzerin enthielten. Es hat sich bei diesem Vorgehen gezeigt, daß diejenigen Stämme, welche auf diesem Endoagar in 15 Stunden Kolonien mit Fuchsinglanz bildeten, bei Reinzucht die erwähnte starke Glyzerinagar-Zerreißung zeigten. Sie waren auf diese Weise leicht herauszufinden.

So untersucht finden sich die starken Glyzerinvergärer etwa in jedem zweiten oder dritten menschlichen Stuhl, ohne daß es bisher gelungen ist, Beziehungen zu krankhaften Zuständen festzustellen.

Die mitgeteilten Versuche weisen darauf hin, daß die Untersuchung von Reinkulturen auf Glyzerinagar-Zerreißung in der angegebenen Weise als eine Methode der kulturellen Differenzierung nahestehender Arten anzusehen ist, da sie die Feststellung einer augenscheinlich konstanten kulturellen Eigenschaft ermöglicht.

Literaturverzeichnis.

1. **G. Seiffert:** Die Abtötung pathogener Bakterien unter Glyzerineinwirkung. Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 74, 1914, S. 644.
2. **C. Gazzetti:** Biologische Wirkung des den Nährsubstraten zugesetzten Glyzerins auf einige chromogene Keime, mit besonderer Berücksichtigung der Farbstofferzeugungsfunktion. Centralbl. f. Bakt, Abt. I, Orig., Bd. 60, 1911, S. 588.
3. **Th. Bocorny:** Versuche über Glyzerinernährung der Hefe. Centralbl. f. Bakt, Abt. II, Bd. 49, 1909, S. 339.
4. **H. Braun** und **C. E. Cahn-Bronner:** Der Verwendungsstoffwechsel pathogener Bakterien. I. Mitteilung und II. Mitteilung. Biochem. Zeitschr., Bd. 131, S. 248 und S. 301.
5. **W. C. de Graaff** und **A. J. Le Fèvre:** Beiträge zur Kenntnis der bakteriellen Gärungen. Biochem. Zeitschr., Bd. 155.
6. **Kruse:** Allgemeine Mikrobiologie. S. 420. Leipzig, Verlag von F. C. W. Vogel, 1910.
7. **Lafar:** Handbuch der technischen Mykologie. 5. Bd., S. 579. Verlag von Gustav Fischer, 1905—1914.
8. **Heim:** Lehrbuch der Bakteriologie. S. 571. Verlag von Ferdinand Enke, 1922.
9. **Mandelbaum:** Zur Typhusfrage in München. Münch. med. Wochenschr., 1908, 55. Jahrg., S. 19.
10. **Brown:** Journal Chemical Society of London, Transactions 1887, Bd. 51, S. 638.
11. **M. E. van Ermengem:** Recherches sur des cas d'accidants alimentaires produits par des saucissons. Revue de Hygiène, 1896, S. 761.
12. **G. Troili-Petersson:** Studien über in Käse gefundene glyzerinvergärende und lactatvergärende Bakterien. Centralbl. f. Bakt., II, Bd. 24, 1909, S. 333.
13. **A. Castellani** und **A. J. Chalmers:** Sur la classification de certaines groupes de Bacilles aerobies de l'intestin humain. Annales de l'institut Pasteur, Bd. 34, 1920.
14. **Bergey:** Manual of Determinative Bacteriology Baltimore, Williams und Wilkins Company, 1923.
15. **Kraus-Uhlenhuth:** Handbuch d. mikrobiol. Technik, Bd. I, S. 569.
16. **W. Frieber:** Über Selbstbereitung von bakteriologischer Peptonlösung und über Trypsinbouillon zur Prüfung auf indolbildende Bakterien. Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 86, S. 424.
17. **E. Klieneberger:** Die Gasbildung im Zuckeragar hohe Schicht. Im Druck befindlich.
18. **E. Speyer:** Über die Wirkung verschiedener Wasserstoffionenkonzentrationen auf das Wachstum des Coli-Bacillus in künstlichen Nährböden. Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 93, 1924, S. 340.
19. **M. Neisser** und **W. Frieber:** Indol- und Phenolbildung durch Bakterien. Kraus u. Uhlenhuth, Handb. d. mikrobiol. Technik, Bd. II, S. 1260.

Lebenslauf.

Ich, Hedwig, Paula, Marie Neisser, preußische Staatsangehörige, bin geboren am 31. Dezember 1897 zu Breslau als Tochter des verstorbenen Justizrats und Stadtrats Dr. Gustav Neisser.

Von meinem 6. bis zu meinem 13. Lebensjahr besuchte ich die Lyceen der Augustaschule und daran anschließend der Viktoriaschule zu Breslau. Ostern 1911 wurde ich in die realgymnasiale Studienanstalt der Viktoriaschule aufgenommen und bestand Ostern 1917 dort die Reifeprüfung.

Ich wurde zunächst bei der philosophischen Fakultät der Universität Breslau immatrikuliert und studierte ein Semester lang Geschichte. Im Herbst 1917 wurde ich bei der medizinischen Fakultät immatrikuliert. Im Frühjahr 1920 bestand ich mein Physikum an der Universität Breslau und im Sommer 1923 die ärztliche Staatsprüfung ebendaselbst. Vom 1. Oktober 1923 bis 31. Januar 1924 war ich am Städt. Untersuchungsamt zu Charlottenburg, vom 1. Februar bis zum 31. Mai 1924 an der Städt. Lungenheilstätte Herrnprotsch bei Breslau, vom 1. Juni bis zum 30. September an der II. innern Abteilung des Westendkrankenhauses zu Charlottenburg als Medizinalpraktikantin tätig. Im Oktober 1924 erhielt ich meine Approbation als Arzt. Vom 1. November 1924 an bekleidete ich eine Volontärassistentenstelle am Hygienischen Universitäts-Institut zu Frankfurt a. M., wo ich unter Leitung des Direktors, Herrn Geheimrat Prof. Dr. M. Neisser meine Dissertation ausgearbeitet habe.

gez. **Hedwig Neisser.**